Cited Reference #2 - English Abstract

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 09-098793
(43)Date of publication of application : 15.04.1997

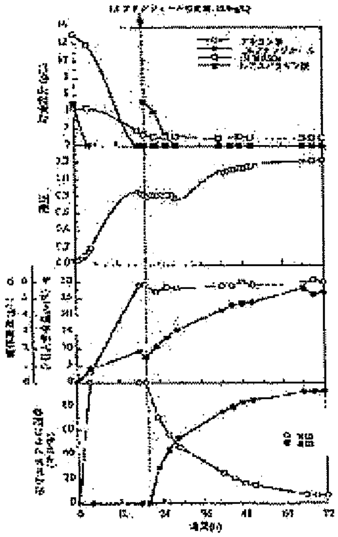
(51)Int.Cl. C12P 7/62
C08G 63/00
C08G 63/06
//(C12P 7/62
C12R 1:01)

(21)Application number : 07-259679
(22)Date of filing : 06.10.1995

(71)Applicant : TAISEI CORP
(72)Inventor : SAITO YUJI
TAKI HIRONORI
SHIBAYAMA MASAKO
TOMOSAWA TAKASHI

(54) PRODUCTION OF POLYESTER COPOLYMER CONTAINING 4-HYDROXYBUTYRATE UNIT

(57)Abstract:
PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain the subject copolymer having a biodegradability and a bio-compatibility, and used for a medical material, etc., by culturing microorganisms belonging to Comamonas genus having an ability of producing poly-3-hydroxybutyrate in a medium containing gluconic acid and 1,4-butanediol.
SOLUTION: This objective polyester copolymer excellent in biodegradability and bio-compatibility is obtained by inoculating microorganisms belonging to Comamonas genus and having an ability to produce poly-3-hydroxybutyrate (e.g.; Comamonas acidovorans, IFO13852) to a medium containing gluconic acid and 1,4-butanediol, performing an aerobic culture at 30° C for 72hr to grow cells while aerating, producing and storing a polyester copolymer consisting of 3-hydroxybutyrate units expressed by the formula -OCH(CH3)CH2CO- and 4-hydroxybutyrate units expressed by -O(CH2)3CO- in the cells, and then collecting the product with an extraction, etc.



Cited Reference #2

(19)日本国特許庁（ＪＰ）　(12)公開特許公報（Ａ）　(11)特許出願公開番号

特開平9−98793

(43)公開日　平成９年(1997)４月15日

(51)Int.Cl.6	識別記号	庁内整理番号	ＦＩ		技術表示箇所
Ｃ１２Ｐ　7/62			Ｃ１２Ｐ　7/62		
Ｃ０８Ｇ　63/00			Ｃ０８Ｇ　63/00		
63/06	ＮＬＫ		63/06	ＮＬＫ	
//（Ｃ１２Ｐ　7/62					
Ｃ１２Ｒ　1:01）					

審査請求　未請求　請求項の数４　ＯＬ　（全７頁）

(21)出願番号　特願平7−259679

(22)出願日　平成７年(1995)10月６日

(71)出願人　000206211
大成建設株式会社
東京都新宿区西新宿一丁目25番１号

(72)発明者　斎藤　祐二
東京都新宿区西新宿一丁目25番１号　大成建設株式会社内

(72)発明者　瀧　寛則
東京都新宿区西新宿一丁目25番１号　大成建設株式会社内

(72)発明者　柴山　雅子
東京都新宿区西新宿一丁目25番１号　大成建設株式会社内

(74)代理人　弁理士　平木　祐輔　（外１名）

最終頁に続く

(54)【発明の名称】　４−ヒドロキシブチレート単位を含む共重合ポリエステルの製造方法

(57)【要約】

【解決手段】　コマモナス(Comamonas) 属に属し、ポリ-3-ヒドロキシブチレート生産能を有する微生物を、グルコン酸および1,4-ブタンジオールを含有する培地で好気培養して菌体を増殖させることにより、3-ヒドロキシブチレート単位（３ＨＢ単位）と、4-ヒドロキシブチレート単位（４ＨＢ単位）とからなる共重合ポリエステルを生成、蓄積させることを特徴とする、前記共重合ポリエステルの製造方法。

【効果】　３ＨＢ単位と４ＨＢ単位、特に４ＨＢ単位の存在比の高いポリエステル共重合体を収率よく製造することができる。また、使用する微生物がリンや窒素の存在下においても増殖可能なため、当該菌体の培養を前後段に分ける必要がなく、一工程で菌体の増殖と共重合体の合成とを行うことができ、効率的である。

【特許請求の範囲】

【請求項１】　コマモナス(Comamonas) 属に属し、ポリ-3-ヒドロキシブチレート生産能を有する微生物を、グルコン酸および1,4-ブタンジオールを含有する培地で好気培養して菌体を増殖させることにより、該菌体内に下記式(1) ：

$-OCH(CH_3)CH_2CO-$　(1)

で表される3-ヒドロキシブチレート単位と、下記式(2) ：

$-OCH_2CH_2CH_2CO-$　(2)

で表される4-ヒドロキシブチレート単位とからなる共重合ポリエステルを生成、蓄積させることを特徴とする、前記共重合ポリエステルの製造方法。

【請求項２】　前記菌体の増殖を、最初は前記微生物をグルコン酸を含有する培地で好気培養し、次いで増殖の定常期に1,4-ブタンジオールを前記培地に流加して好気培養することにより行う、請求項１に記載の共重合ポリエステルの製造方法。

【請求項３】　1,4-ブタンジオールを培地に流加した後の好気培養が微好気培養である、請求項２に記載の共重合ポリエステルの製造方法。

【請求項４】　培地として、さらにアスパラギン酸またはグルタミン酸を含有する培地を用いることにより、菌体内に前記式(2) で表される単位を90モル％以上含む共重合ポリエステルを生成、蓄積させることを特徴とする、請求項３に記載の共重合ポリエステルの製造方法。

【発明の詳細な説明】

【０００１】

【発明の属する技術分野】本発明は、微生物により分解可能で、生体適合性にも優れた熱可塑性ポリマーである、3-ヒドロキシブチレート単位（以下、３ＨＢ成分という。）と4-ヒドロキシブチレート単位（以下、４ＨＢ成分という。）とからなる共重合ポリエステルを、微生物を用いて製造する方法に関する。

【０００２】

【従来の技術】エネルギー貯蔵物質として多種類の微生物の細胞内に蓄積されるポリヒドロキシアルカノエイトは、微生物によって分解可能なプラスチック材料として注目されている。このようなポリヒドロキシアルカノエイトのうち、特に、３ＨＢ成分のみからなるポリ-3-ヒドロキシブチレートは、微生物による分解性に優れるとともに、加水分解性、生体適合性、光学活性をも有する機能性材料として評価されている。しかしながら、このポリ-3- ヒドロキシブチレートは、結晶性が高いために脆性であることから未だ実用化には至っていない。

【０００３】これに対して、近年、水素細菌のアルカリゲネス・ユートロファス(Alcaligenes・eutrophus)は、炭素源として4-ヒドロキシ酪酸や1,4-ブタンジオールなどを用いて培養すると、３ＨＢ成分と４ＨＢ成分とからなるポリエステル共重合体を生産することが確認されており、その製造方法については、例えば、特開昭64-48821号公報や特開平1-156320号公報に記載されている。

【０００４】このような３ＨＢ成分と４ＨＢ成分とからなる共重合ポリエステルは、当該共重合体における４ＨＢ成分の存在量に応じて、結晶性の高いプラスチックから弾性に富むゴムまで幅広い性質の高分子材料となり得ることが確認されている。したがって、用途に応じた性質となるように当該共重合体における４ＨＢ成分の存在量を制御することによって、多様な用途に対応することが期待される。特に、４ＨＢ成分の存在比が高い共重合ポリエステルは、その引っ張り強度が 100MPa以上の強靱な性質を示すとともに、ＰＨＢデポリメラーゼやリパーゼなどの酵素によって速やかに分解されることが明らかとなっている(Y. Saito and Y. Doi,Int. J. Biol. Macromol.,16, 99(1994)) 。

【０００５】しかしながら、前述の特開昭64-48821号公報や特開平1-156320号公報に記載されているアルカリゲネス・ユートロファスを用いた方法により製造すると、当該共重合体における４ＨＢ成分の存在比が60モル％以下のものしか得られないため、きわめて柔軟で強靱な性質を必要とする用途、例えば、構造材料や釣り糸、手術用糸などに適用可能な共重合ポリエステルを得ることができない。

【０００６】また、アルカリゲネス・ユートロファスは、窒素やリンの存在下では前記の共重合ポリエステルを生産し難いため、前述の公報に記載されているような方法で前記共重合ポリエステルを製造するためには、アルカリゲネス・ユートロファスの菌体の培養を前後段に分けて、前段で当該菌体の増殖を行った後に、後段で炭素源を含み且つリン及び／又は窒素が制限された培地において当該菌体の培養を行う必要があり、製造工程が複雑である。

【０００７】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、上記のような従来技術の問題点を解決するためになされたものであり、本発明の課題は、３ＨＢ成分と４ＨＢ成分とからなる共重合ポリエステルであって、４ＨＢ成分の含有割合が高いものをも製造することができ、その上、微生物の一段階の培養でかかる共重合ポリエステルを製造することが可能な方法を提供することにある。

【０００８】

【課題を解決するための手段】本発明は、コマモナス(Comamonas) 属に属し、ポリ-3-ヒドロキシブチレート生産能を有する微生物を、グルコン酸および1,4-ブタンジオールを含有する培地で好気培養して菌体を増殖させることにより、該菌体内に下記式(1) ：

$-OCH(CH_3)CH_2CO-$　(1)

で表される3-ヒドロキシブチレート単位と、下記式(2) ：

$-OCH_2CH_2CH_2CO-$　(2)

で表される4-ヒドロキシブチレート単位とからなる共重合ポリエステルを生成、蓄積させることを特徴とする、前記共重合ポリエステルの製造方法を提供する。

【０００９】本発明で使用される微生物は、コマモナス(Comamonas) 属に属し、ポリ-3-ヒドロキシブチレート生産能を有する微生物であれば特に制限はなく、例えば、コマモナス・アシドボランズ(Comamonas・acidovorans)等が挙げられ、かかる菌種の中で入手が容易な菌株としては、コマモナス・アシドボランズ IF013852 がある。

【００１０】本発明においては、これらの微生物を、炭素源としてグルコン酸および1,4-ブタンジオールを含有する液体の培地で好気培養して菌体を増殖させる。培養は好気的に行うが、１分間当たりの培地１リットルに対する通気量は、好ましくは、 0.1～1.7 リットルであり、更に好ましくは 0.2～1.0 リットルである。

【００１１】上記微生物は、グルコン酸および1,4-ブタンジオールを含有する培地で好気培養して菌体の増殖を行うが、４ＨＢ成分の割合が高い共重合ポリエステルを得るためには、最初、上記微生物をグルコン酸を含有する培地で好気培養し、次いで増殖の定常期に1,4-ブタンジオールを前記培地に流加して好気培養することにより菌体の増殖を行うのが好ましい。この場合、1,4-ブタンジオール流加後は、菌体の増殖を抑制し、菌体内にエネルギー貯蔵物質としてポリエステルを蓄積させるという理由から、微好気的に培養を行うのが好ましい。微好気培養を行う場合の１分間当たりの培地１リットルに対する通気量は、好ましくは、 0.1～1.0 リットルであり、更に好ましくは、 0.1～0.3 リットルである。

【００１２】グルコン酸および1,4-ブタンジオールの使用量は、３ＨＢ成分と４ＨＢ成分とからなる共重合ポリエステルを生成させることができ、かつ微生物の生育を阻害しないような量であればよく、使用した微生物の菌株や所望の共重合ポリエステルなどによっても異なるが、グルコン酸と1,4-ブタンジオールの合計で、通常、培地１リットル当たり10～40ｇ程度である。

【００１３】また、最初、上記微生物をグルコン酸およびアスパラギン酸またはグルタミン酸を含有する培地で好気培養し、次いで増殖の定常期に1,4-ブタンジオールを前記培地に流加して好気培養することにより菌体の増殖を行うと、より一層４ＨＢ成分の含有割合が高い共重合体ポリエステル、具体的には４ＨＢ成分の含有割合が90モル％以上の共重合ポリエステルを製造することができる。この場合、アスパラギン酸またはグルタミン酸の使用量は、通常、培地１リットル当たり３～５ｇ程度である。

【００１４】培地には、上記のグルコン酸、1,4-ブタンジオール、アスパラギン酸、グルタミン酸の他に、硫酸アンモニウム、硫酸マグネシウム、リン酸２水素カリウム、リン酸水素２ナトリウム、塩化コバルト、塩化ニッケル、塩化鉄、塩化クロム、塩化カルシウム、硫酸銅等が含有される。培養は、上記のような培地中で、通常、26～37℃、好ましくは26～30℃の温度、通常、pH 6.0～8.0 、好ましくは 6.5～7.0 にて、２～４日間程度行う。

【００１５】上記のように培養を行った後、培養液から、濾過、遠心分離等の通常の方法で菌体を分離回収し、この菌体を洗浄、乾燥した後、得られた乾燥菌体を、クロロホルムまたは塩化メチレンに混合し、加熱することによって共重合ポリエステルを抽出することができる。さらに、その抽出液を貧溶媒であるヘキサンや水に添加することにより、共重合ポリエステルを析出させて単離することができる。本発明の製造方法によれば、共重合ポリエステル中の３ＨＢ成分と４ＨＢ成分との割合を任意に調節することができ、４ＨＢ成分の割合が90モル％以上の共重合ポリエステルをも製造することができる。

【００１６】

【実施例】本発明を、実施例によりさらに具体的に説明する。尚、本発明は、これらの実施例に限定されるものではない。

〔実施例１～６〕各実施例において、以下のようにしてコマモナス・アシドボランズ IF013852を使用して共重合体を製造した。下記の組成を有する培地（pH7.0 ）に、コマモナス・アシドボランズ IF013852 を接種した後、１分間当たりの培地１リットルに対する通気量（リットル）を表１に示した量として、30℃で72時間培養を行った。

【００１７】培地組成

脱イオン水	1.00Ｌ
炭素源	
グルコン酸ナトリウム	15.14ｇ
1,4-ブタンジオール	5.44ｇ
硫酸アンモニウム	4.72ｇ
硫酸マグネシウム７水和物	0.30ｇ
リン酸２水素カリウム	2.65ｇ
リン酸水素２ナトリウム12水和物	7.16ｇ
ミネラル溶液（下記の組成のもの）	3.00ml

ミネラル溶液の組成

0.1N HCl	1.00Ｌ
$CoCl_2$	119.0 mg
$NiCl_2$	118.0 mg
$FeCl_2$	9.7 mg
$CrCl_2$	62.2 mg
$CaCl_2$	7.8 mg
$CuSO_4$	156.4 mg

【００１８】培養終了後、培養液を9000rpmで５分間遠心分離機にかけて菌体を分離回収した後、凍結乾燥して乾燥菌体を得た。培地１リットル当たりの乾燥菌体重量を表１に示す。得られた乾燥菌体を熱クロロホルムで処

理して菌体内に生成、蓄積された共重合ポリエステルを抽出し、得られた抽出液を濃縮した後、ヘキサンを添加して共重合ポリエステルを析出させて、回収した。前記乾燥菌体の重量と乾燥させた共重合ポリエステルの重量を測定し、菌体中の共重合ポリエステル含有量を算出した。その結果を表１に示す。

【００１９】また、抽出した共重合ポリエステルをガス＊クロマトグラフィーで分析して、３ＨＢと４ＨＢ成分の割合を調べた。その結果を表１に示す。なお、表１の「ＰＨＡ」は共重合ポリエステルを示し、「３ＨＢ」は3-ヒドロキシブチレート単位を、「４ＨＢ」は4-ヒドロキシブチレート単位をそれぞれ示す。

【００２０】

【表１】

	通気量（L）	乾燥菌体重量（g／L）	ＰＨＡ含有量（重量％）	ＰＨＡの組成　（モル％）	
				３ＨＢ	４ＨＢ
実施例１	０．０００	０．７	４	１００	０
実施例２	０．１６７	４．４	１６	５３	４７
実施例３	０．３３３	４．７	１９	４９	５１
実施例４	０．６６７	５．０	１９	４７	５３
実施例５	１．０００	５．０	１６	３７	６３
実施例６	１．６６７	５．９	１	４６	５４

【００２１】表１に示すように、コマモナス・アシドボランズ（IFO13582）菌体は、１分間当たりの培地１リットルに対する通気量が 1.667リットルの好気条件では細胞増殖が活発であり、ＰＨＡ含有量は乾燥菌体重量当たり１％であった。一方、通気量0.333リットル、 0.667リットルの条件では、４ＨＢ成分の割合が50モル％以上の共重合ポリエステルが、乾燥菌体重量当たり19％の含有量で合成された。

【００２２】〔実施例７〕炭素源としてグルコン酸ナトリウムおよびＬ－アスパラギン酸を含む下記の培地３Ｌを用いた。この培地 100mlで種培養したコマモナス・アシドボランズ（IFO13582）菌体を植菌した後、１分間当たりの培地１リットルに対する通気量を 1.667リットルとして、培養温度30℃の条件で培養を開始した。培養液の濁度を連続的にモニタリングし（図１参照）、定常となった時点（20時間後）で、培養液中に1,4-ブタンジオールを培地１リットル当たり5.44ｇになるように流加した。また、この時点から１分間当たりの培地１リットルに対する通気量を 0.333リットルに落とし、さらに52時間培養を継続した。

【００２３】<u>培地組成</u>

脱イオン水	1.00Ｌ
炭素源	
グルコン酸ナトリウム	15.14ｇ
Ｌ－アスパラギン酸	5.00ｇ
1,4-ブタンジオール	5.44ｇ
硫酸アンモニウム	4.72ｇ
硫酸マグネシウム７水和物	0.30ｇ
リン酸２水素カリウム	2.65ｇ
リン酸水素２ナトリウム12水和物	7.16ｇ
ミネラル溶液（実施例１～６と同様の組成）	3.00ml

【００２４】経時的に培養液を採取し、培地１リットル当たりの乾燥菌体重量（ｇ／Ｌ）、乾燥菌体内のＰＨＡ含有量（wt％）、さらにその３ＨＢ成分と４ＨＢ成分の各含有割合（モル％）を上記実施例１～６と同様の方法で経時的に測定した。また、上澄液中の炭素源（グルコン酸、1,4-ブタンジオール、Ｌ－アスパラギン酸）および窒素源（硫酸アンモニウム）の培地１リットル当たりの含有量（ｇ／Ｌ）を高速液体クロマトグラフィーで経時的に定量した。図１には、培地にＬ－アスパラギン酸を配合した場合の培地に含まれる各成分、濁度、菌体重量、ＰＨＡ含有量および共重合ポリエステルの組成の経時変化を示すグラフを表す。

【００２５】また、培地にＬ－アスパラギン酸を配合しなかった場合の上記と同様の結果を図２に示す。図１から、培地にＬ－アスパラギン酸を配合した条件では、1,4-ブタンジオールの流加後から４ＨＢ成分の割合が上昇し、72時間後には４ＨＢの割合が93モル％の共重合ポリエステルが乾燥菌体重量当たり30％近くの含有量で合成されたことがわかる。一方、培地にＬ－アスパラギン酸を配合しない条件（図２）では、培養開始から定常期にかけてポリ-3-ヒドロキシブチレートを乾燥菌体重量当たり15％以上の含有量で蓄積していた。さらに、1,4-ブタンジオールの流加後から４ＨＢ成分の割合が上昇しているが、72時間後の割合は80モル％程度であり、その含有量も乾燥菌体重量当たり20％程度であった。

【００２６】図３は、上記の結果から算定した生産性をまとめたものであり、培地にＬ－アスパラギン酸を配合した場合と配合しなかった場合の共重合ポリエステル中の４ＨＢ成分の分率（モル％）、培地１リットル中の４ＨＢ成分の量（ｇ／Ｌ）および４ＨＢ成分の1,4-ブタンジオールからの収率（重量％）の経時変化を示すグラフ

を表す。初期の培地にＬ－アスパラギン酸を配合した条件では、72時間後の単位容積当たりの４ＨＢ成分濃度が1.5ｇ／Ｌであり、Ｌ－アスパラギン酸を配合しない場合の約２倍の結果となった。さらに、Ｌ－アスパライン酸を配合した場合の４ＨＢ成分の1,4-ブタンジオールからの収率をみると、72時間後には30％近くに達し、配合しない場合の２倍以上の値となっている。このように、初期培地にＬ－アスパラギン酸を配合することによって、1,4-ブタンジオールを添加した後の４ＨＢ成分の生産性をより向上させることができる。

【００２７】〔実施例８〕炭素源としてグルコン酸ナトリウムおよびＬ－グルタミン酸を含む下記の培地３Ｌを用いた。この培地 100mlで種培養したコマモナス・アシドボランズ(IF013582)菌体を植菌した後、１分間当たりの培地１リットルに対する通気量を 1.667リットルとして、培養温度30℃の条件で培養を開始した。培養液の濁度を連続的にモニタリングし（図４参照）、定常となった時点（20時間後）で、培養液中に1,4-ブタンジオールを培地１リットル当たり5.44ｇになるように流加した。また、この時点から１分間当たりの培地１リットルに対する通気量を 0.333リットルに落とし、さらに52時間培養を継続した。

【００２８】培地組成

脱イオン水	1.00Ｌ
炭素源	
グルコン酸ナトリウム	15.14ｇ
Ｌ－グルタミン酸	5.00ｇ
1,4-ブタンジオール	5.44ｇ
硫酸アンモニウム	4.72ｇ
硫酸マグネシウム７水和物	0.30ｇ
リン酸２水素カリウム	2.65ｇ
リン酸水素２ナトリウム12水和物	7.16ｇ
ミネラル溶液（実施例１～６と同様の組成）	3.00ml

【００２９】経時的に培養液を採取し、培地１リットル当たりの乾燥菌体重量（ｇ／Ｌ）、乾燥菌体内のＰＨＡ含有量（wt％）、さらにその３ＨＢ成分と４ＨＢ成分の各含有割合（モル％）を上記実施例１～６と同様の方法で経時的に測定した。また、上澄液中の炭素源（グルコン酸、1,4-ブタンジオール、Ｌ－グルタミン酸）および窒素源（硫酸アンモニウム）の培地１リットル当たりの含有量（ｇ／Ｌ）を高速液体クロマトグラフィーで経時的に定量した。図４には、培地にＬ－アスパラギン酸を配合した場合の培地に含まれる各成分、濁度、菌体重量、ＰＨＡ含有量および共重合ポリエステルの組成の経時変化を示すグラフを表す。

【００３０】図４から、1,4-ブタンジオールを流加後から４ＨＢ分率が上昇し、培養72時間後には４ＨＢ分率90％の共重合ポリエステルが乾燥菌体重量当たり26％の含有量で蓄積されていることがわかる。また、1,4-ブタンジオールからの４ＨＢ成分への収率は23％であった。

【００３１】

【発明の効果】本発明によれば、３ＨＢ成分と４ＨＢ成分、特に４ＨＢ成分の存在比の高いポリエステル共重合体を収率よく製造することができる。本発明で使用する微生物はリンや窒素の存在下においても増殖可能なため、当該菌体の培養を前後段に分ける必要がなく、一工程で菌体の増殖と共重合体の合成とを行うことができ、効率的である。さらに、本発明で得られた共重合体は、優れた種々の特性を有しているので、手術系および骨折固定用材などの医療材料の原料として極めて好適であり、また除放システムへの利用などの多方面への応用が期待される。

【図面の簡単な説明】

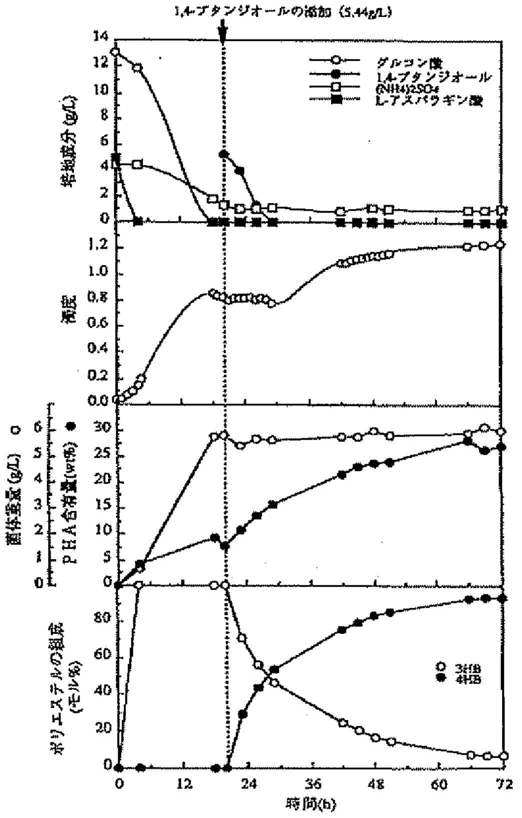
【図１】実施例７における、培地にＬ－アスパラギン酸を配合した場合の培地成分、濁度、菌体重量、ＰＨＡ含有量および共重合ポリエステルの組成の経時変化を示すグラフを表した図である。

【図２】実施例７における、培地にＬ－アスパラギン酸を配合しなかった場合の培地成分、濁度、菌体重量、ＰＨＡ含有量および共重合ポリエステルの組成の経時変化を示すグラフを表した図である。

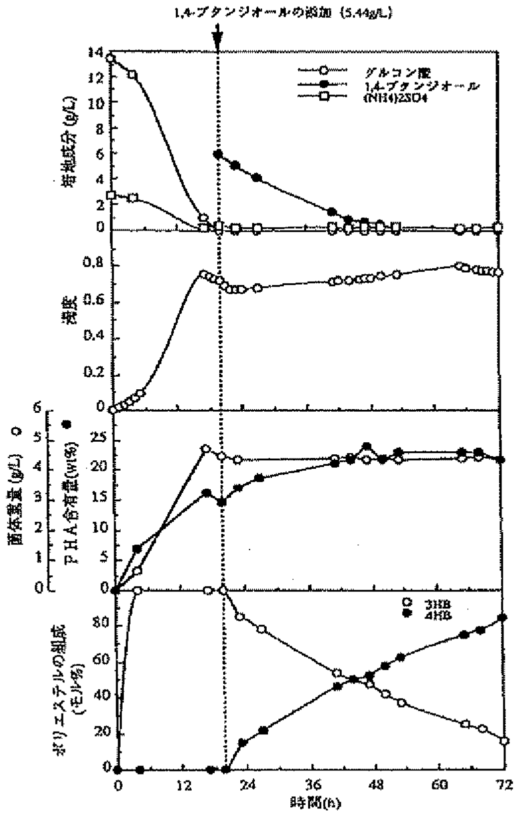
【図３】実施例７における、培地にＬ－アスパラギン酸を配合した場合と配合しなかった場合の共重合ポリエステル中の４ＨＢ成分の割合、培地１リットル中の４ＨＢ成分の量および４ＨＢ成分の1,4-ブタンジオールからの収率の経時変化を示すグラフを表した図である。

【図４】実施例８における、培地にＬ－グルタミン酸を配合した場合の培地成分、濁度、菌体重量、ＰＨＡ含有量および共重合ポリエステルの組成の経時変化を示すグラフを表した図である。

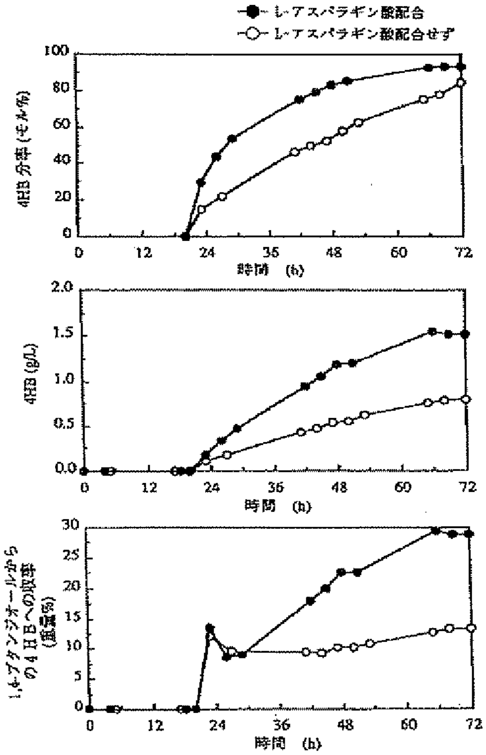
【図１】


1,4-ブタンジオールの添加（5.44g/L）
培地成分 (g/L)
グルコン酸
1,4-ブタンジオール
(NH4)2SO4
L-アスパラギン酸
濁度
菌体重量 (g/L)
PHA含有量(wt%)
ポリエステルの組成
(モル%)
3HB
4HB
時間(h)

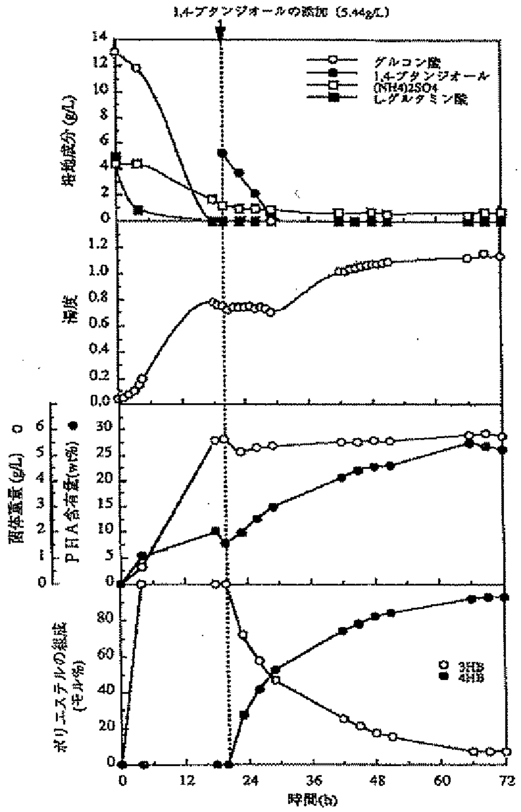
【図２】


1,4-ブタンジオールの添加（5.44g/L）
培地成分 (g/L)
グルコン酸
1,4-ブタンジオール
(NH4)2SO4
濁度
菌体重量 (g/L)
PHA含有量(wt%)
ポリエステルの組成
(モル%)
3HB
4HB
時間(h)

【図3】



【図4】



フロントページの続き

(72)発明者　友沢　孝
東京都新宿区西新宿一丁目25番１号　大成建設株式会社内